

## エナメルマトリックス蛋白とリン酸カルシウムとの複合体による骨再生に関する研究

著者	野 愛実
号	52
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第888号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00130042">http://hdl.handle.net/10097/00130042</a>

氏 名（本籍）： 但<sup>ただ</sup>野<sup>の</sup>愛<sup>まな</sup>実<sup>み</sup>（福島県）

学 位 の 種 類： 博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号： 歯 博 第 8 8 8 号

学位授与年月日： 令和2年3月25日

学位授与の要件： 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目： エナメルマトリックス蛋白とリン酸カルシウムとの複合体による骨再生に関する研究

論文審査委員：（主査）教授 洪 光  
教授 鈴木 治 教授 福本 敏

## 論文内容要旨

【目的】生体内において、細胞は周囲の細胞や細胞外マトリックスとの相互作用を介して生命活動を担っている。そのため、細胞を三次元培養することで得られる球状細胞凝集塊（スフェロイド）は、組織や器官のビルディングブロックとして注目されており、移植可能な三次元の細胞組織体を生体外で作製することが再生医療における今後の方向性の一つとして挙げられている。スフェロイド培養は、平面培養と比較して、より生体内環境に近い状態での培養が可能となり、その組織としての機能が十分に発揮されることが期待されている。

また、歯源性上皮細胞株であるSF2細胞を三次元培養した場合、平面培養よりもエナメル芽細胞の分化が大幅に促進し、最終の分化様式である石灰化物形成まで至ることが報告されている。分化の過程で発現するエナメルマトリックス蛋白の一つであるアメロブラスチンは、骨組織においてもその発現が確認されている。さらに当分野において、特定条件下で合成したリン酸オクタカルシウム(OCP)は、新生骨との置換能を持つことが確認されており、骨芽細胞など硬組織由来細胞を活性化する作用を持つ。また、OCPはエナメル質でも同定され、エナメルマトリックス蛋白と高い親和性を持つことが報告されている。

そこで、本研究ではSF2細胞とOCP混合することで、より効率的なエナメル芽細胞分化を目的としてSF2細胞・OCP組織複合体を作製し、エナメル芽細胞分化および骨再生に与える影響についての検討を行った。

【方法】in vitro試験として、SF2細胞とOCPとの組織複合体を作製し、エナメル芽細胞分化に関して解析を行った。スフェロイド培養には、当分野で開発した三次元培養器を使用した。in vivo試験として、ラット切歯由来の歯源性上皮細胞であるSF2細胞と当分野で開発した骨再生材料の一つであるOCPを混合して組織複合体を作製し、マウス頭蓋冠規格化骨欠損部に埋入し、サンプル埋入4週後に頭蓋冠を

回収して新生骨形成の評価を行った。

【結果】SF2細胞を使用した*in vitro*試験でのアメロプラスチン発現量は、OCP/SF2で高い発現傾向を認めた。マウス頭蓋冠規格化骨欠損部において、OCP/SF2群で厚みのある新生骨形成が認められ、新生骨量は、SF2only群と比較して高かった。

【結論】以上の結果から、OCPと混合することにより、SF2細胞のエナメル芽細胞分化が促進され、分化の過程で生じたエナメルマトリックス蛋白によって骨形成を認めることが示唆された。今後、新たな骨再生材料としての応用が期待される。

## 審査結果要旨

細胞を三次元培養することで得られる球状細胞凝集塊（スフェロイド）は組織や器官の再生分野において注目されている。今までのスフェロイド培養技術では生成効率の乏しさ、大きさのコントロールの困難さがあったが、三次元細胞培養デバイスの開発により、一度に大量の均一サイズスフェロイド形成が可能のみならず、損傷することなくピペティングのみで回収可能になった。

歯原性上皮細胞株であるSF2細胞は三次元培養によって、骨吸収抑制と骨形成促進作用が期待されるアメロジェニンとアメロプラスチンが発現することが報告されている。しかし、細胞分化の後期になるとスフェロイドの周囲でアメロジェニンの発現が消失し、内部ではアメロプラスチンの発現が維持することがわかった。そこで、本研究では三次元培養デバイスを用いてエナメルマトリックス蛋白と優れた新生骨との置換能を有するリン酸オクタカルシウム（OCP）複合組織体の骨再生治療への応用を目的に、OCPとSF2細胞を混合し、三次元培養することにより、OCP-SF2細胞複合体がエナメル芽細胞分化および骨再生に与える影響について、*in vitro*（エナメル芽細胞分化の解析）およびマウス頭蓋冠規格化欠損モデルを用いた*in vivo*で検討を行った。

その結果、*in vitro*においては、アメロプラスチン発見量はSF2+OCP群で高い発見が認められ、同様に*in vivo*においてもSF2細胞群との比較で厚みのある新生骨形成および高い新生骨量が確認され、骨再生におけるOCP-SF2細胞複合体の有効性が示唆された。

本研究では、三次元培養によるOCP-SF2細胞複合体の骨再生治療への有用性について*in vitro*および*in vivo*検討に基づき明らかにした。本研究は、OCP-SF2細胞複合体の優れた骨再生能を明らかにすることにより、新たな骨再生材料としてエナメルマトリックス蛋白とリン酸オクタカルシウム複合体の適用可能性と将来性を示しており、再生医療学の研究領域に学術的貢献をし得ることから 博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。